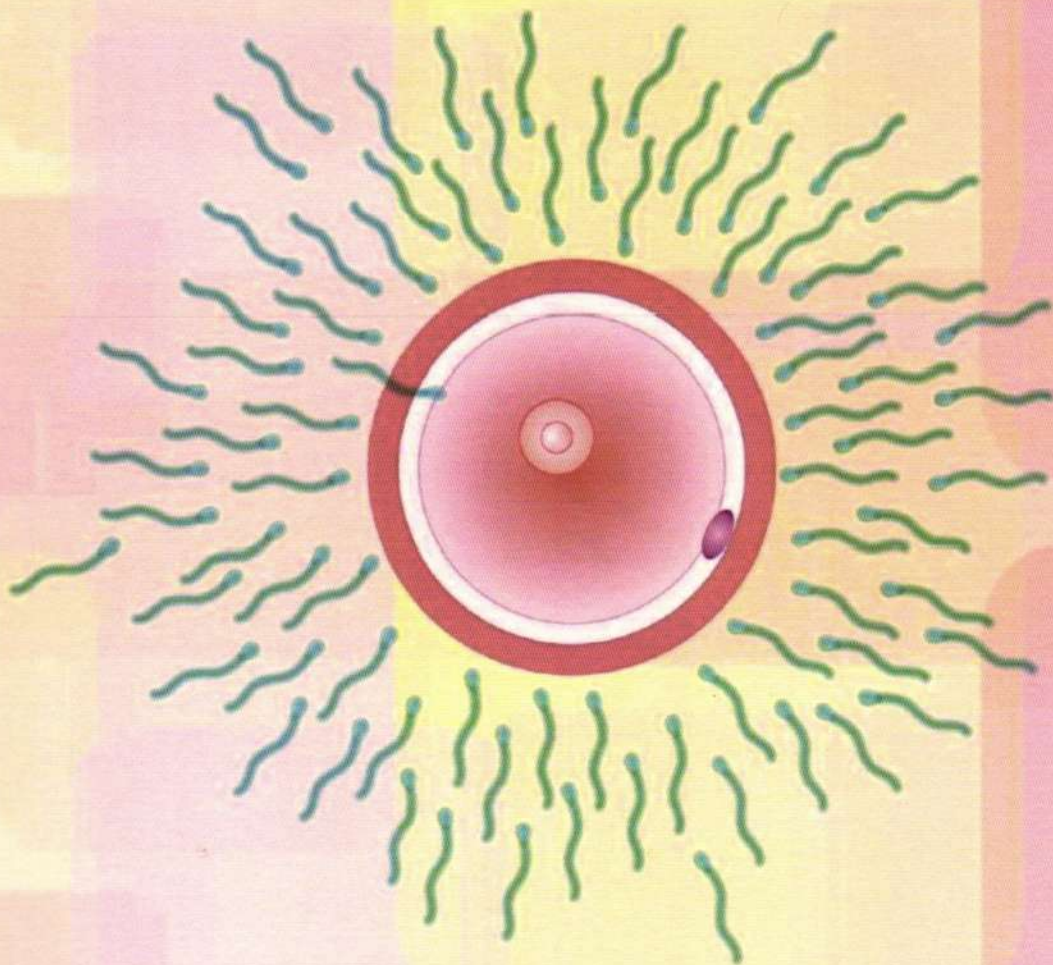


OVOZOA

e-journal

JOURNAL OF ANIMAL REPRODUCTION



OVOZOA (Jurnal Reproduksi Hewan)
Vol. 3, No. 2, Oktober 2014
Terbit tiap 6 bulan, pada Bulan April dan Oktober

Susunan Dewan Redaksi

Ketua Penyunting

Budi Utomo

Sekretaris

Tri Wahyu Suprayogi

Bendahara

Sri Mulyati

Mitra Bestari

Prof. Dr. Laba Maha Putra

Prof. Dr. Ismudiono

Prof. Mas'ud Hariadi, PhD.

Prof. Dr. Imam Mustofa

Prof. Dr. Wurlina

Prof. Dr. Pudji Sianto

Penyunting Pelaksana

Hardijanto

Suhermi Susilowati

Sri Pantja Madyawati

Abdul Samik

Herry Agoes Hermadi

Rimayanti

Suzanita Utama

Penyunting Penyelia

Husni Anwar

Trilas Sardjito

Indah Nourma Triana

Tatik Hernawati

Tjuk Imam Restiadi

Hermin Ratnani

Erma Safitri

Alamat Redaksi: Departemen Reproduksi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga, Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya 60115. Telp. 031-5992785 –
5993016; Fax. 031-5993015. E-mail: ovozoa@yahoo.com

OVOZOA JOURNAL OF ANIMAL REPRODUCTION

Vol. 3, No. 2, Oktober 2014

Terbit tiap 6 bulan, pada Bulan April dan Oktober

Daftar Isi

	Halaman
1. Pengukuran Kerusakan DNA Inti Spermatozoa Sapi Simental <i>Post Thawing</i> Yang Disentrifugasi Menggunakan Diluter Skim Kuning Telur Dan Lesitin Kacang Kedelai (Novia Candrawati, Suherni Susilowati dan Bambang Purnomo)	225
2. Viabilitas Spermatozoa Domba Merino Dengan Penambahan Berbagai Konsentrasi NaCl (Habib Syaiful Arif Tuska, Sri Mulyati, dan Soetji Prawesthirini)	231
3. Angka Resistensi Spermatozoa Domba Merino dan Kambing Peranakan Etawa Dalam NaCl 0,9%, NaCl 1%, dan NaCl 1,1% (Dedi Meldiarsani, Husni Anwar, dan Budiarto)	235
4. Respon Timbulnya Birahi Setelah Pencabutan MPA (<i>Medroxy Progesterone Acetate</i>) Intravaginal yang Diikuti Dengan Pemberian Hormon Gonadotropin Pada Domba Ekor Gemuk (Herry Agoes Hermadi, Nur Aisyah Suslia Rani, Indah Norma Triana, dan Setiawati Sigit)	239
5. Efek Kombinasi Pregnant Mare Serum Gonadotropin (PMSG) dan Follicle Stimulating Hormone (FSH) Untuk Superovulasi Terhadap Waktu Paruh dan Durasi Estrus Domba Ekor Gemuk (<i>Ovis aries</i>) (Laudita Setia Busta, Suzanita Utama, dan Ngakan Made Rai Widjaja)	243
6. Pengaruh Berbagai Waktu <i>Thawing</i> Semen Beku Domba Ekor Gemuk (DEG) Terhadap Persentase Viabilitas, Motilitas Dan Membran Plasma Utuh Spermatozoa (Wong Aihuwa Diah Lestari, Suherni Susilowati, dan Sunaryo Hadi Warsito)	247
7. Upaya Menambah Pendapatan Peternak Bebek Petelur Dan Mengatasi Pencemaran Air Permukaan Melalui Tatalaksana Pakan, Pengolahan Limbah Dan Diversifikasi Usaha (Hardijanto, Tri Wahyu Suprayogi, dan Emy Koestanti Sabdoningrum)	252
8. Efisiensi Reproduksi Pada Sapi Potong Setelah Inseminasi Buatan Di Wilayah Timur Dan Barat Kabupaten Lombok Timur Tahun 2012 (Shafia Khairani, Rr. Sri Pantja Madyawati, dan Anwar Ma'ruf)	260
9. Efisiensi Reproduksi Sapi Peranakan <i>Limousin</i> dan <i>Simmental</i> Hasil Inseminasi Buatan (IB) Periode 2012 DI Kecamatan Ngoro Kabupaten Jombang (Nur Oky Andreana, Ngakan Made Rai Widjaja, dan Abdul Samik)..	266
10. Pengaruh Infusa Kulit Manggis (<i>Garcinia mangostana L.</i>) Terhadap Reaksi Akrosom Spermatozoa Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) (Gian Robby F. A.,	

Budi Utomo, dan Sri Hidanah)	270
11. Penambahan Plasma Seminalis Sapi Terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing Pada Proses Pembekuan Dengan Waktu Ekuilibrasi Yang Berbeda (Suherni Susilowati, Trilas Sardjito, dan Indah Norma Triana)	274
12. Identifikasi Protein <i>Fertility Associated Antigen</i> (FAA) Pada Vesikula Seminalis Sapi Brangus Jantan Menggunakan Teknik <i>Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Eelectrophoresis</i> (SDS-PAGE) Dan <i>Western Blot</i> (Ruswita Permana Sari, Anwar Ma'ruf, Sri Pantja Madyawati, dan Tri Wahyu Suprayogi)	281
13. Isolasi dan Identifikasi Osteopontin Membran Spermatozoa Sebagai Upaya Peningkatan Kualitas semen beku Sapi Perah <i>Fressian holstein</i> (Tatik Hernawati, Abdul Samik, dan Erma Safitri)	286
14. Suplementasi <i>Insuline-like Growth Factor-1</i> Serum Kuda <i>Thoroughbred</i> Bunting Pada Peningkatan Pembelahan Embrio Sapi (Tjuk Imam Restiadi) ...	294

**MEASUREMENT OF NUCLEAR DNA DAMAGE OF SIMENTAL BULL
SPERMATOZOA POST THAWING WITH SENTRIFUGED EGG YOLK SKIM
AND SOYBEAN LECITHIN DILUTER**

**PENGUKURAN KERUSAKAN DNA INTI SPERMATOZOA SAPI SIMENTAL
POST THAWING YANG DISENTRIFUGASI MENGGUNAKAN DILUTER
SKIM KUNING TELUR DAN LESITIN KACANG KEDELAI**

Novia Candrawati¹⁾, Suherni Susilowati²⁾, Bambang Purnomo³⁾

¹⁾Student, ²⁾Department of Veterinary Reproduction, ³⁾Department of Veterinary Embriology
Faculty of Veterinary Medicine Airlangga University

ABSTRACT

The research was aimed to compare egg yolk skim and soybean lecithin diluter after sentrifugation. Comparison both diluter measured by nuclear DNA damage of Simental bull spermatozoa. All parameter were measured before and after sentrifugation. Apoptotic sperm nuclear damage was measured by TUNNEL assay metode using Apo-BrdU-IHCTM *In Situ* DNA Fragmentation Assay Kit. The result of evaluation of nuclear DNA damage showed significant difference ($p < 0,05$), it was perhaps caused by the composition of soybean lecithin diluter was more complete with the present of antioxidant. The result of spermatozoan quality measurement showed there were no significant difference except for the motility that showed significant difference before sentrifugation ($p < 0,05$).

Keywords : Diluents, centrifugation, sperm nuclear DNA

Pendahuluan

Proses *In Vitro Fertilisasi* (IVF) membutuhkan semen beku yang berkualitas tinggi dengan bahan pengencer semen yang mampu mempertahankan kualitas spermatozoa selama proses pendinginan, pembekuan, maupun pada saat *thawing*. Bahan pengencer semen beku harus mengandung sumber nutrisi, *buffer*, bahan anti *cold shock*, antibiotik dan krioprotektan yang dapat melindungi spermatozoa selama proses pembekuan dan *thawing*. Saat ini secara meluas telah dan digunakan bahan pengencer yang mengandung *buffer* seperti tris (hydroxymethyl) aminomethan dan yang dapat dibuat berdasarkan resep seperti skim kuning telur (SKT) yang secara universal di gunakan untuk semen beku sapi (Arifiantini dan Yusuf, 2012).

Pengencer Skim Kuning Telur (SKT) menggunakan kuning telur sebagai salah satu komponen penyusun, yang diketahui mengandung berbagai jenis mikroorganisme dan mungkin menjadi media penyebar beberapa penyakit menular. Didukung oleh (Froning, dalam Surachman, dkk. 2006) melaporkan bahwa telur ayam ras mengan-

dung *Salmonella typhimurium* sebanyak rata-rata 67,09 CFU/ml. Salah satu pengencer semen yang terbuat dari bahan Lesitin Kacang Kedelai (LKK) dan tidak mengandung kuning telur adalah Andromed[®] (Minitube – Jerman). Pengencer semen komersial ini selain tidak terkontaminasi mikroorganisme yang berasal dari kuning telur juga mudah digunakan karena telah tersedia dalam paket siap pakai.

Proses pembekuan sel spermatozoa dapat mempengaruhi kerusakan membran plasma spermatozoa. Membran plasma yang menyelubungi sebuah sel selain membatasi keberadaan sebuah sel, juga memelihara perbedaan pokok antara isi sel dengan lingkungan. Namun membran tersebut tidak sekedar merupakan sebuah penyekat pasif, melainkan juga merupakan sebuah filter yang memiliki kemampuan memilih bahan-bahan yang melintasinya dengan tetap memelihara perbedaan kadar ion di dalam dan di luar sel. Adanya protein dan mukopolisakarida pada permukaan membuat membran hidrofili, yang berarti bahwa air melekat dengan mudah pada membran tersebut. Lipid terletak di tengah membran

dan tidak dapat di tembus oleh zat yang tidak larut dalam lipid, bagian lemak molekul fosfolipid melekat pada fase lipid yang terletak di tengah membran sel, dan bagian polar (terionisasi) molekul menonjol ke permukaan yang terikat secara elektrokimia dengan lapisan dan lapisan luar protein (Ayu, 2012).

Menurut Rahmah (2008) apabila membran sel rusak maka dapat berakibat rusaknya organel yang terdapat di dalam sel seperti mitokondria dan lisosom. Fungsi mitokondria merupakan tempat terjadinya respirasi sel yang menghasilkan energi. Kerusakan mitokondria akan mengganggu proses metabolisme yang secara langsung akan mempengaruhi pergerakan spermatozoa. Kerusakan lisosom mengakibatkan lisisnya enzim yang ada dalam spermatozoa. Kerusakan integritas membran spermatozoa juga mempengaruhi integritas DNA spermatozoa. Integritas DNA spermatozoa penting untuk keberhasilan fertilisasi termasuk perkembangan dari embrio dan berasal dari fetus yang normal atau keturunannya. Spermatozoa yang akan dibekukan seharusnya menggunakan bahan pengencer yang memiliki berbagai kandungan. Hal ini diperlukan karena selama proses pembuatan dan penyimpanan semen beku, bahan pengencer tersebut dapat mengurangi motilitas dan merusak integritas membran plasma spermatozoa, sehingga dapat menurunkan tingkat fertilitas.

Reactive oxygen species (ROS) merupakan senyawa yang secara alamiah diproduksi dalam metabolisme seluler. Produksi ROS berlebih disebabkan karena tersedianya oksigen dalam jumlah banyak di dalam spermatozoa. Hal ini dapat menimbulkan kerusakan spermatozoa akibat peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid ditimbulkan adanya radikal bebas, beberapa contoh radikal bebas tersebut adalah superoksida, hidroksil dan peroksil (Darmawan, 2007). Radikal bebas tersebut sangat reaktif, dan bila bereaksi dengan asam lemak tak jenuh akan membentuk peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid juga dapat terdekomposisi oleh senyawa radikal bebas menjadi senyawa *malondialdehid* (MDA), pada umumnya hasil akhir dari peroksidasi di spermatozoa adalah terbentuknya senyawa MDA (Fauzi, 2008).

MDA mempunyai korelasi dengan motilitas spermatozoa, sehingga dapat mempengaruhi kualitas spermatozoa dengan menurunnya motilitas spermatozoa. Pada tahap akhir proses spermatogenesis, histon (*somatic histone*) yang berasosiasi dengan DNA pada inti spermatozoa akan digantikan oleh suatu protein transisi dan selanjutnya akan terbentuk histon atau protamin (keduanya adalah protein sederhana yang secara bergantian menstabilkan struktur inti spermatozoa selama spermatogenesis) yang spesifik untuk spermatozoa. Penggantian protein ini dianggap bertanggung jawab terhadap penghambatan proses transkripsi pada inti dan pengompakan kromatin (*chromatin compaction*). Rusaknya struktur kromatin juga dapat disebabkan oleh radikal bebas. Salah satu agen oksidasi adalah ROS yang dalam kadar tinggi dapat bersifat toksik terhadap spermatozoa (Saili, 2006). Penurunan produksi spermatozoa dapat juga karena pengaruh apoptosis sel germinal. Aktivasi caspase 3 merupakan jalur eksekutor sebelum terjadi apoptosis. Aktivitas caspase 3 yang lama secara tidak langsung dapat menyebabkan azoospermia (Ilyas, 2007).

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk membandingkan terjadinya kerusakan DNA inti spermatozoa pada semen beku yang di sentrifugasi dengan menggunakan diluter skim kuning telur dan lesitin kacang kedelai. Tujuan khusus dari penelitian ini adalah mengetahui kerusakan DNA inti spermatozoa sebagai indikator dari apoptosis setelah mengalami proses pembekuan dan sentrifugasi.

Metode Penelitian

Sampel semen diperoleh dengan cara penampungan menggunakan vagina buatan dari sapi Simental jantan yang berumur 5-6 tahun. Penampungan dilakukan sore hari pada jam 16.00-17.00 WIB sebanyak satu kali.

Setelah semen ditampung maka segera diperiksa secara makroskopis maupun mikroskopis. Pemeriksaan tersebut bertujuan untuk mengetahui apakah semen masih layak digunakan untuk menjadi semen beku. Pemeriksaan makroskopis meliputi : volume, warna, bau, konsistensi, dan derajat keasaman atau pH. Sedangkan untuk pemeriksaan mikroskopis meliputi : gerak-

an massa, gerakan individu, motilitas, dan konsentrasi spermatozoa. Semen yang mempunyai persentase motilitas awal minimal 70%, konsentrasi spermatozoa lebih dari 600 juta/ml, persentase spermatozoa hidup lebih dari 80% digunakan sebagai sampel. Selanjutnya pembuatan diluter skim kuning telur dan diluter lesitin kacang kedelai, yang kemudian dilanjutkan dengan proses pembekuan semen.

Keberadaan kromatin dalam inti sel sangat menentukan status DNA yang terikat erat pada protamin yang berfungsi sebagai pelindung bagi DNA inti. Perubahan yang terjadi pada kromatin akan berakibat pada perubahan status DNA, sehingga pemeriksaan kondisi kromatin dapat menggambarkan status DNA yang terdapat di dalam kromatin tersebut. Kondensasi yang kurang kompak berkorelasi positif dengan abnormalitas kromatin dan DNA inti spermatozoa. Kondisi ini juga dapat terjadi pada spermatozoa yang terpapar oleh radikal bebas atau akibat apoptosis. Pengukuran DNA Inti spermatozoa yang mengalami apoptosis dilakukan dengan metode TUNEL assay menggunakan Apo-BrdU-IHC™ *In Situ* DNA Fragmentation Assay Kit.

Pemeriksaan DNA Inti Spermatozoa

Sampel di dapatkan dari semen beku yang telah diberi perlakuan kemudian pelletnya di jadikan preparat dengan fiksasi menggunakan formalin 10%. Dilanjutkan dengan meneteskan 100µl Proteinase K dan diinkubasi pada suhu ruangan selama 20 menit. Dilanjutkan dengan meneteskan 3% H₂O₂ sebanyak 100µl diinkubasi dalam suhu ruangan selama 5 menit. Teteskan 100µl 5 kali *Reaction Buffer*, dilanjutkan dengan meneteskan 50µl DNA labeling solution yang terdiri dari (5 kali *Reaction Buffer*, TdT *Enzyme*, Br-dUTP, dan Distilled H₂O) sesuai perhitungan, diinkubasi pada suhu 37°C selama 1-1,5 jam. Teteskan 100µl *Blocking Buffer*, diinkubasi pada suhu ruangan selama 10 menit. Dilanjutkan dengan meneteskan 100µl *Antibody Solution* yang terdiri dari (Anti-BrdU-Biotin mAb dan *Blocking Buffer*) sesuai perhitungan, diinkubasi pada suhu ruangan dalam ruang gelap selama 1-1,5 jam.

Dilanjutkan dengan meneteskan 100µl 200 kali *Conjugate* yang terdiri dari (200 kali *Conjugate* dan *Blocking Buffer*), diinkubasi pada suhu ruangan selama 30 menit. Selama menunggu reaksi dari *Conjugate*, siapkan DAB solution yang terdiri dari (1 tab DAB+1 tab H₂O₂+1 ml Aqua), setelah 30menit lanjutkan dengan meneteskan 100µl larutan DAB diinkubasi pada suhu ruangan selama 15 menit, setelah itu cuci dengan aquadest. Pada setiap langkah pergantian penetesan larutan diatas lakukan pencucian dengan PBS sebanyak satu kali secara perlahan. Langkah selanjutnya adalah pewarnaan menggunakan 100µl *Methyl Green Counterstain* yang diinkubasi dalam suhu ruangan selama 3 menit, dan dibilas menggunakan 100% ethanol, dan langkah ini di ulang sebanyak 2 kali kemudian dikeringkan dan ditutup menggunakan *cover glass* yang telah diberi paraffin.

Terlebih dahulu dilakukan uji Homogenitas pada sebaran data untuk mengetahui normalitas data, bila data dalam bentuk skor diuji menggunakan Mann-Whitney Test. Data hasil penelitian dalam bentuk rasio di uji normalitas distribusi, sehingga data yang normal di analisis dengan menggunakan Uji T Independent (*student's t*) (Kusriningrum, 2008).

Hasil dan Pembahasan

Hasil Pemeriksaan Kerusakan DNA Inti Spermatozoa Sapi Simental

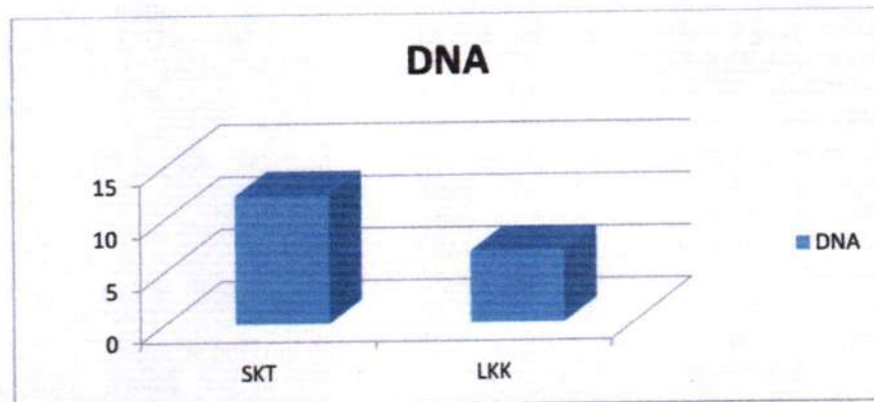
Hasil pemeriksaan rata-rata dan standar deviasi Kerusakan DNA inti spermatozoa sapi Simental setelah di beri perlakuan dua bahan pengencer : pengencer Skim Kuning Telur (SKT) dan pengencer Lesitin Kacang Kedelai (LKK) yang telah disentrifugasi tercantum pada Tabel 1.

Perhitungan kerusakan DNA inti spermatozoa sapi Simental *post-thawing* setelah diberi perlakuan dua bahan pengencer : pengencer Skim Kuning Telur (SKT) dan pengencer Lesitin Kacang Kedelai (LKK). Hasil pemeriksaan menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$) pada kerusakan DNA inti spermatozoa dengan menggunakan uji Mann-Whitney, hal ini dikarenakan sebaran dari data tidak rata. Dibawah ini terdapat gambar dari apoptosis yang terdapat pada

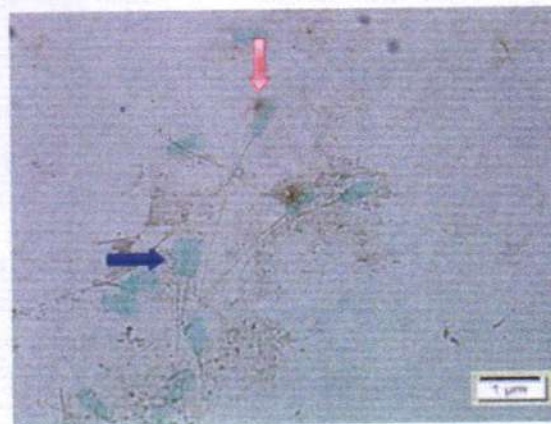
Tabel 1. Rata-rata dan Standart Deviasi Hasil Pemeriksaan Persentase Kerusakan DNA Inti Spermatozoa Sapi Simental Setelah Sentrifugasi.

Parameter	SKT	LKK
Kerusakan DNA inti	12,22 ± 110,00 ^a	6,78 ± 61,00 ^b

Superskrip pada baris yang sama dengan notasi yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($p > 0,05$)



Gambar 1. Diagram pada DNA inti spermatozoa dengan perbandingan diluter SKT dan LKK



Gambar 2. Pemeriksaan DNA Inti spermatozoa terhadap semen beku yang telah mengalami perlakuan. Hasil pewarnaan spermatozoa dengan *Tunel assay* untuk mengetahui adanya apoptosis DNA inti pada kepala spermatozoa dengan terbentuknya warna coklat (Pembesaran 1000X, diambil dengan kamera Nikon H600L).
Panah merah : kepala spermatozoa yang mengalami apoptosis pada DNA inti
Panah biru : kepala spermatozoa yang tidak mengalami apoptosis.

DNA Inti spermatozoa dan gambar diagram perbedaan diluter SKT dan LKK.

Pengamatan apoptosis DNA inti spermatozoa pada setiap sampel, merupakan jumlah total yang ditemukan pada 5 (lima) lapangan pandang yang berbeda, pada pembesaran 1000 kali (dengan menggunakan *software* Ni-S Elements 4.00.10; Nikon). Menggunakan Apo-BrdU-IHC™ *In Situ* DNA Fragmentation Assay Kit menun-

jukkan hasil warna coklat muda hingga coklat tua pada apoptosis DNA inti, bila tidak terjadi apoptosis maka kepala spermatozoa tidak akan terwarnai.

Pemeriksaan kerusakan DNA inti spermatozoa menunjukkan hasil yang berbeda dengan hasil pemeriksaan pada variabel pemeriksaan yang lainnya. Hal ini disebabkan karena di dalam Andromed® yang mengandung lesitin kacang kedelai memi-

iliki komposisi yang tepat sehingga sesuai dengan ketentuan untuk menjadi diluter. Sesuai dengan Toelihere (1993) persyaratan utama yang harus dimiliki oleh suatu bahan pengencer semen adalah mengandung sumber energi, buffer, dan antibiotik untuk mencegah pertumbuhan kuman.

Hasil penelitian Aku (2005) melaporkan bahwa di samping lesitin, Andromed® juga mengandung protein, karbohidrat (fruktosa, glukosa, manosa dan maltotriosa), mineral (natrium, kalsium, kalium, magnesium, klorida, fosfor, dan mangan), asam sitrat, antioksidan, gliserol, lemak, dan gliserilfosforil kolin (GPC). Selanjutnya dilaporkan bahwa Andromed® mengandung lesitin yang cukup tinggi, yakni sebanyak $6,76 \text{ g } 100\text{ml}^{-1}$ (6,76%). Seluruh bahan-bahan yang terkandung di dalam pengencer Andromed® merupakan bahan-bahan yang telah umum digunakan dalam menyusun pengencer selama ini (Rizal, dkk., 2006).

Salah satu bahan dalam Andromed® terdapat asam sitrat dan bila dalam siklus kreb akan berubah menjadi asam laktat. Sesuai Setyawati (2010) Siklus asam sitrat atau yang dikenal juga dengan sebagai siklus krebs atau siklus asam trikarboksilat merupakan lintasan akhir bersama oksidasi karbohidrat, lipid dan protein. Siklus Krebs terkait dengan segi metabolisme biokimia yang sebenarnya, bahan yang masuk berasal dari karbohidrat dapat keluar membentuk lemak, sedangkan bahan yang masuk berasal dari asam amino dapat keluar membentuk karbohidrat. Namun, teramat jarang ialah dari lemak menuju karbohidrat. Kerusakan pada membran plasma spermatozoa mengakibatkan kematian pada sel (apoptosis), sel yang mengalami apoptosis dengan cepat diserap oleh sel Sertoli, sehingga berpengaruh pada jumlah spermatozoa (Wardani, dkk., 2012).

Menurut Anom (2010) proses kematian sel akibat adanya apoptosis yaitu kematian sel secara terprogram tanpa didahului oleh proses pembengkakan pada sel atau proses peradangan sel. Proses apoptosis dimulai dengan adanya proses pengerutan sel, selanjutnya sel akan pecah dan diikuti dengan pecahnya inti sel. Proses apoptosis pada sel dapat terjadi melalui proses fisiologi maupun proses patologi. Proses apoptosis yang terjadi secara fisiologis melibatkan peran dan fungsi telomer. Telomer

adalah suatu protein yang berfungsi melindungi kromosom telomer, telomer terbentuk dari aktivasi enzim telomerase. Adanya hambatan pada pembentukan enzim telomerase akan menyebabkan hambatan pembentukan telomer sehingga kromosom pecah dan sel akan mati. Proses apoptosis ini membutuhkan waktu lebih lama dibandingkan dengan nekrosis yaitu sekitar beberapa jam hingga beberapa hari tergantung inisiatornya (Hadi, 2011).

Sesuai dengan pendapat Weber *et al.*, (2008) sel sperma menunjukkan karakteristik dari sel apoptosis. Apoptosis adalah program fisiologis kematian seluler yang ditandai dengan penyusutan sel, pengurangan volume sitoplasma, kondensasi kromatin, pembelahan DNA dan fragmentasi nucleus. Setiap deregulasi proses apoptosis selama spermatogenesis akan mengarah pada pembentukan sperma yang rusak. Peningkatan jumlah sperma yang mengalami apoptosis berpotensi menyebabkan infertilitas. Ada kemungkinan bahwa kerusakan genetik pada sperma, terjadinya apoptosis, dan motilitas sperma saling berhubungan. Pada sperma normal terdapat perbedaan molekul penanda apoptosis dengan sperma abnormal (Hadi, 2011).

Kesimpulan

Diluter lesitin kacang kedelai lebih baik dibandingkan dengan diluter skim kuning telur yang dibuktikan dengan tingginya persentase kerusakan DNA inti spermatozoa pada diluter skim kuning telur.

Daftar Pustaka

- Aku, A.S. 2005. *Preservasi dan Kriopreservasi Semen Domba Garut (Ovis aries) dalam Berbagai Jenis Pengencer Berbasis Lesitin*. [Tesis]. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Anom, I.D.P. 2010. *Eksresi Protein p53 dan Cyclin Dependent Kinase (CDK) Pada Kanker Mammary Mencit Setelah Pemberian Fraksi Alkaloid Jarong* [Tesis]. Program Pascasarjana. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Arifriantini, R.I. dan T.L. Yusuf. 2012. *Keberhasilan Penggunaan Tiga Pengencer dalam Dua Jenis Kemasan*

- pada Proses Pembekuan Semen Sapi Friesian Holstein. Institute Pertanian Bogor. Bogor.
- Ayu, D.K. 2012. Pengaruh Berbagai Bahan Pengencer Terhadap Motilitas, Viabilitas dan Membran Plasma Utuh Sperma Sapi *Friesian Holstein Post-Thawing* [Tesis]. Program Magister Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Darmawan, H. 2007. Production of ROS and its effect on mitochondrial and nuclear DNA, human spermatozoa, and sperm function. *Media Jurnal Indonesia*. 16 (2):127-133.
- Fauzi, T.M. 2008. Pengaruh Pemberian Timbale Asetat dan Vitamin C Terhadap Kadar Malondialdehid dan Kualitas Spermatozoa Didalam Sekresi Epididimis Mencit Albino (*Mus musculus m*) Strain balb/c [Tesis]. Universitas Sumatra Utara. Medan.
- Hadi, R.S. 2011. Apoptosis Pada Sperma Sebagai Petanda Adanya Gangguan Kesuburan Pria. *Majalah Kesehatan Pharma Medika*. 3(2): 282-285.
- Ilyas, S. 2007. Analysis of protein fas expression and caspase 3 activated at the suppression phase to sperm quantity by androgen/progestin combination. *Jurnal Biologi Sumatera*. 2 (2): 45 - 47.
- Kusriningrum. 2008. *Perancangan Percobaan*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Setyawati, A.N. 2010. Handout Ajar Siklus Krebs. Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Setyawati, A.N. 2010. Handout Ajar Siklus Krebs. Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Rizal, M., Maman, S., Herdis, dan Achmad, S.A. 2006. Peranan Plasma Semen dalam Mempertahankan Kualitas Spermatozoa Asal Epididimis Domba yang Disimpan pada Suhu Rendah (3-5°C). *JITV* 11 (4): 287-294.
- Saili, T. 2006. Morfologi dan Integritas DNA Spermatozoa Domba Setelah Diawetkan Dengan Metode Pengerembekuan [Tesis]. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Surachman, M., Herdis, M. A. Setiadi, dan M. Rizal. 2006. Cryopreservation of Ram Epididymal Spermatozoa Using Lecithin-Based Extender. *Jurnal Indonesia Trop.Anim.Agric*. 31 (2) : 83-89.
- Setyawati, A.N. 2010. Handout Ajar Siklus Krebs. Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Toelihere, M.R. 1993. *Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Penerbit Angkasa. Bandung.
- Wardani, E.T. H. Alfiah, dan I.B. Rai Pidada. 2012. Pengaruh Ekstrak Jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) var. Gajah Terhadap Jumlah dan Viabilitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*) Yang Terpapar 2-Methoxyethanol [Skripsi]. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Weber, B.F., M.R. Andre, M.M. Camila, P. Marcella, Millazotto, D.G. Marcello, C.D. Cassia, A.V. Jose and E.O.D. Mayra. 2008. Kinetics of changes in plasma membrane related to apoptosis and necrosis in bovine sperm cells at different incubation times. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.*, São Paulo, 45(5): 398-404.